

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Hasil Ekstasi

Ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol diikuti dengan penguapan menghasilkan ekstrak kental berwarna coklat tua seperti pada Gambar 5. Rimpang temu kunci seberat 10 kg menyusut menjadi 3 kg setelah menjadi serbuk. Ekstrak kental hasil maserasi terbentuk seberat 47,621 gram. Rendemen dapat dihitung dari serbuk temu kunci dan ekstrak kental temu kunci dan mendapatkan rendemen sebesar 1,587 %.

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat serbuk temu kunci}} \times 100\% \\ &= \frac{47,621 \text{ gram}}{3000 \text{ gram}} \times 100 \% = 1,587 \%\end{aligned}$$



Gambar 5. Hasil Ektrak Etanol Temu Kunci

2. Data Hasil PSA dan Zeta Sizer

Berdasarkan prosedur yang sudah dilakukan, pembuatan koloid nanopartikel menghasilkan warna koloid nanopartikel coklat yang ditunjukkan pada Gambar

6. Adapun endapan hasil sentrifuge setelah kering berbentuk serbuk halus berwarna coklat muda yang ditunjukkan pada Gambar 7. Endapan yang terbentuk memiliki struktur yang halus dan ringan setiap butirannya.



Gambar 6. Koloid Nanopartikel Ekstrak Etanol Temu Kunci

Hasil penelitian menunjukkan sampel dengan ukuran nanopartikel (< 1000 nm) yang paling besar adalah sampel 11. Rasio asam alginat dan CaCl_2 (2,5:1) dengan persen (%) alginat 0,1 dan persen (%) CaCl_2 0,04. Ukuran persen (%) nanopartikel sebesar 95,2% adalah 339 – 877 nm dan ukuran mikropartikel sebesar 4,8% adalah 2269 – 3905 nm. Nilai zeta potensial rata-rata untuk sampel 11 adalah -72,1 mV.



Gambar 7. Endapan Kering Hasil Sentrifuge

Persentase nanopartikel yang paling kecil adalah sebesar 0%. Persentase tersebut terdapat pada sampel 1, 2, 3, 5, dan 6. Sebelas sampel yang diukur ukuran partikelnya dapat dilihat secara lengkap pada Lampiran 6 sampai Lampiran 16, dan nilai zeta potensial secara lengkap dapat dilihat pada Lampiran 17 sampai Lampiran 21. Secara singkat dapat dilihat pada Tabel 2.

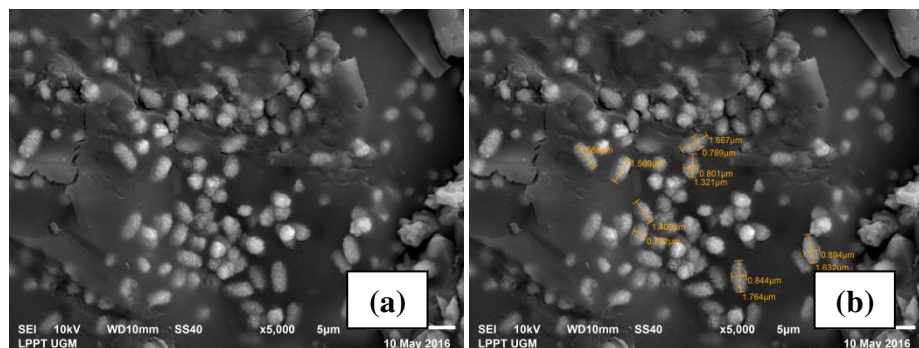
Tabel 2. Hasil Pengukuran Ukuran Partikel dan Nilai Zeta Potensial

Sam- pel	Alginat (%)	CaCl ₂ (%)	% Nano	Ukuran nano (nm)	% Mikro	Ukuran mikro (nm)	Berat (gr)	Rerata Zeta Potensial (mV)	Warna
1	0,1	0,1	0		100	2269- 3409	0,569	-	Coklat muda
2	0,3	0,1	0		100	1005- 3409	0,576	-	Coklat muda
3	0,5	0,1	0		100	3905- 5122	0,894	-	Coklat muda
4	0,1	0,2	16,5	510- 669	83,5	6000	0,649	24,2	Coklat muda
5	0,1	0,3	0		100	1151- 1318	0,637	-	Coklat muda
6	0,1	0,4	0		100	1318- 6000	0,597	-	Coklat muda
7	0,1	0,01	80,8	226- 877	19,2	1005- 1318	0,167	-89,5	Coklat muda
8	0,1	0,015	83,3	259- 877	16,7	1005- 1981	0,227	-84,7	Coklat muda
9	0,1	0,02	90,2	197- 877	9,8	1005- 1151	0,246	-82,1	Coklat muda
10	0,1	0,03	65,5	259- 877	34,5	1005- 1510	0,228	-	Coklat muda
11	0,1	0,04	95,2	339- 877	4,8	2269- 3905	0,182	-72,1	Coklat muda

3. Data Hasil SEM

Karakterisasi menggunakan SEM bertujuan untuk melihat morfologi permukaan partikel atau bentuk 3 dimensi partikel dan ukuran partikel tersebut. *Scanning Electron Microscopy* (SEM) memiliki perpesaran 10 – 3.000.000x

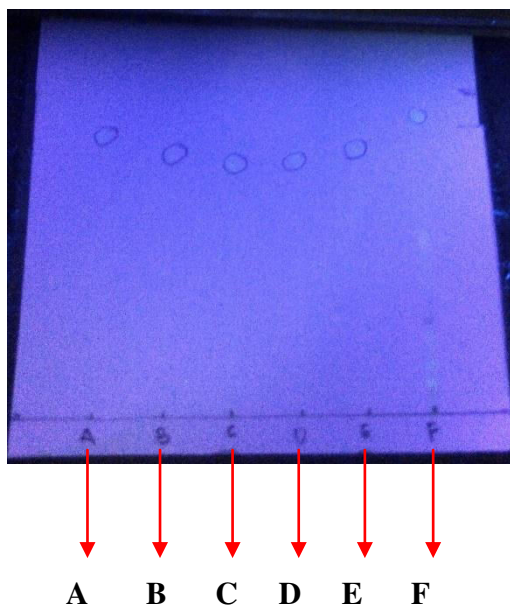
sehingga dapat menghasilkan gambar permukaan secara mendetail. Analisis SEM yang telah dilakukan menghasilkan perbesaran dari 100x – 5000x. Sampel yang dianalisis menggunakan SEM adalah sampel 11 yang menunjukkan ukuran partikel terkecil. Gambar permukaan partikel atau *electron micrograph* perbesaran 5000x menunjukkan bahwa bentuk partikel yang lonjong seperti pada Gambar 8. *Electron micrograph* perbesaran 100x, 500x, dan 1000x dapat dilihat pada Lampiran 22.



Gambar 8. Hasil SEM Sampel 11 dengan Perbesaran 5000x (a); dan (b)

4. Hasil KLT

Hasil identifikasi dengan KLT menggunakan plat silika gel ditunjukkan pada Gambar 9. Data hasil KLT diperoleh R_f A = 0,66; R_f B = 0,61; R_f C = 0,60; R_f D = 0,60; R_f E = 0,65; dan R_f F = 0,71. Eluen yang digunakan adalah kloroform.



Gambar 9. Kromatogram hasil KLT

Keterangan :

A = Sampel 7

B = Sampel 8

C = Sampel 9

D = Sampel 10

E = Sampel 11

F = Ekstrak etanol temu kunci

B. Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk membuat nanopartikel dari ekstrak etanol rimpang temu kunci (*Boesenbergia pandurata*) pada berbagai variasi komposisi asam alginat dan CaCl_2 dengan persen (%) nanopartikel paling besar. Identifikasi tumbuhan dengan surat keterangan yang terlampir pada Lampiran 5 dilakukan untuk menyakinkan bahwa rimpang temu kunci yang digunakan adalah benar yang dimaksud. Ukuran partikel dapat diketahui menggunakan alat

PSA (*Particle size analyzer*) HORIBA LB-550 (IK 03 TP 016). Sedangkan untuk mengetahui ukuran zeta potensial koloid nanopartikel tersebut menggunakan alat *Zeta Sizer Nano Seris Malvem*.

1. Ekstraksi dengan Maserasi Rimpang Temukunci (*Boesenbergia pandurata*)

Rimpang temu kunci kotor seberat 10 kg dibersihkan, dipotong kecil-kecil, dan dijemur hingga kering. Rimpang kering kemudian digiling sampai berbentuk serbuk seberat 3 kg untuk proses maserasi. Rimpang temu kunci banyak mengandung senyawa polar, semipolar, dan non polar sehingga maserasi menggunakan pelarut etanol teknis. Etanol mampu melarutkan banyak senyawa metabolit sekunder. Titik didih etanol cukup rendah yaitu 78,37 °C sehingga mudah untuk diuapkan. Bubuk rimpang temu kunci seberat 3 kg direndam dengan etanol \pm 4L selama 24 jam. Bubuk rimpang temu kunci yang sudah disaring kemudian direndam kembali dalam etanol sebanyak 3 kali pengulangan. Ekstrak etanol yang disaring dari hasil rendaman kemudian dievaporasi agar senyawa-senyawa metabolit sekunder yang larut dalam etanol tidak rusak oleh suhu yang tinggi. Ekstrak kental hasil evaporasi seberat 47,261 gram. Hasil evaporasi berupa ekstrak rimpang temu kunci yang kental berwarna coklat tua seperti ditunjukkan Gambar 5.

2. Pembuatan Koloid Nanopartikel Ekstrak Herbal Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata*) dengan Karakterisasi menggunakan PSA dan *Zeta Sizer*

Preparasi koloid nanopartikel diawali dengan menimbang bahan-bahan yang diperlukan yaitu 1 gram ekstrak kental temu kunci, CaCl_2 , dan alginat. Jumlah CaCl_2 dan alginat sesuai dengan komposisi (dalam persen) seperti pada Tabel 1, dan untuk jumlah asam alginat dan CaCl_2 yang diperlukan dapat dilihat pada Lampiran 1. Ekstrak kental yang sudah disiapkan kemudian dilarutkan dalam etanol p.a sebanyak 35 ml dan ditambah 15 ml akuades hingga semua larut menggunakan *magnetic stirer*. Setelah semua ekstrak kental larut, 100 ml larutan alginat (sudah dilarutkan dalam NaOH 0,1 M) dan larutan CaCl_2 sebanyak 350 ml ditambahkan. Sebanyak 500 ml campuran diaduk dengan kecepatan yang konstan menggunakan *magnetic stirer* selama ± 2 jam. Kecepatan pengadukan yang konstan berguna dalam pembentukan partikel berukuran nano. Penggunaan alginat pada penelitian ini dikarenakan alginat merupakan polimer biokompatibel, biodegradabel, dan tidak toksik terhadap tubuh. Kandungan temu kunci (*Boesenbergia pandurata*) yang terjat dalam polimer ini akan dilepaskan secara bertahap di dalam tubuh apabila diaplikasikan sebagai obat herbal. Polimer ini juga akan mengalami *swelling* atau pembengkakan sebelum terdegradasi dan pecah. Penggunaan CaCl_2 dengan konsentrasi yang rendah pada beberapa sampel bertujuan agar tidak terjadi ikatan yang terlalu banyak antara ion Ca^{2+} dengan gugus karboksilat dari alginat. Metode ini disebut metode gelasi ionik dengan menggunakan pasangan polimer asam alginat dan CaCl_2 . Pemilihan metode gelasi ionik untuk pembuatan nanopartikel dikarenakan metode ini adalah metode yang paling mudah dilakukan dibandingkan dengan metode-metode yang lainnya.

Koloid yang terbentuk disimpan dalam lemari es ($\pm 3^{\circ}\text{C}$) untuk proses lebih lanjut. Larutan tersebut kemudian dikarakterisasi menggunakan PSA (*Particle size analyzer*) untuk mengetahui ukuran partikel yang ada dalam larutan. Hasil dari setiap komposisi ditunjukkan pada Tabel 4. Partikel dengan ukuran nano paling banyak ada pada sampel 11 yaitu sebesar 95,2 % dengan ukuran 339 – 877 nm dapat dilihat pada Lampiran 16.

Sebanyak 95,2% partikel pada sampel 11 berukuran < 1000 nm sehingga dapat disimpulkan bahwa larutan sampel 11 memiliki ukuran nanopartikel hampir 100%. Sebanyak 4,8% partikel pada sampel 11 berukuran mikro karena diameter ukuran partikelnya > 1000 nm. Jumlah partikel berukuran nano $> 90\%$ dapat diukur zeta potensialnya menggunakan *Zeta Sizer Nano Series Malvern*. Nilai rerata zeta potensial sampel 11 adalah -72,1 mV ditunjukkan pada Lampiran 21. Nilai zeta potensial pada sampel 4 menunjukkan nilai 24,2 mV yang dinilai sangat kecil dibandingkan keempat sampel lainnya. Nilai zeta potensial partikel dengan ukuran mikro lainnya tidak diukur karena dapat dipastikan nilainya sangat kecil. Data lengkap dapat dilihat pada Lampiran 17 sampai Lampiran 21.

Sampel 11 merupakan sampel dengan komposisi yang optimal karena sampel 11 memenuhi empat standart yang menentukan keoptimalan komposisi. Pertama adalah persen jumlah nano yang ada dalam koloid nanopartikel menunjukkan angka yang paling besar, yaitu 95,2%. Kedua adalah ukuran nano menunjukkan rentang 339 – 877 nm, rentang tersebut masih dalam kategori partikel berukuran nano (< 1000 nm). Persen nano yang terbanyak

kedua adalah sampel 9 dan terdapat partikel dengan ukuran 197 nm, namun tidak terlihat perbedaan yang signifikan dikarenakan jumlah partikel dengan ukuran 197 nm tersebut hanya sebanyak 0,3 % dari total partikel yang terbentuk. Untuk mengetahui data yang lebih lengkap mengenai jumlah persen nano disetiap ukuran partikel nano pada sampel 9 dan 11 dapat dilihat pada Lampiran 14 dan Lampiran 16. Ketiga, berat endapan yang terbentuk pada sampel 11 adalah 0,182 gram, berat tersebut menunjukkan berat yang lebih kecil dibandingkan sampel 9, meskipun ada berat endapan yang lebih kecil (sampel 7), sampel tersebut tidak menunjukkan jumlah nano yang lebih banyak dari sampel 11. Keempat, nilai rerata zeta potensial sampel 11 adalah -72,1 mV, yaitu nilai zeta potensial yang sudah dalam kategori baik (>30 mV, tanda +/- tidak berpengaruh pada nilai). Zeta potensial akan memberikan gambaran adanya gaya tolakan antar partikel dan menyebabkan sistem dispersi stabil. Dengan mempertimbangkan keempat standar komposisi yang optimal, sampel 11 merupakan sampel yang memiliki keempat standart tersebut.

3. Endapan dalam Larutan Nanopartikel dan karakterisasi menggunakan SEM

Koloid nanopartikel ekstrak temu kunci yang sudah diukur diameter ukuran partikel dan nilai zeta potensial dipisahkan endapannya dengan dipusingkan menggunakan *centrifuge*. Menurut Pupuh dan Sari (2014), endapan terbentuk dari ikatan antara ion Ca^{2+} dengan gugus karboksilat dari alginat. Pada proses pelarutan alginat, terjadi dekompleksasi karena ion Na^+ terlepas dan terbentuk struktur alginat ionik. Ketika larutan alginat dimasukan

dalam CaCl_2 , terjadi kompleksasi gugus karboksilat dalam alginat dengan ion divalen Ca^{2+} sehingga terbentuk endapan. Endapan yang terbentuk dari proses sentrifugasi dicuci dengan akuades untuk menghilangkan sisa Cl^- .

Endapan yang telah dicuci dengan akuades dimasukan dalam freezer ($\pm -4^\circ\text{C}$) selama ± 2 hari dan setelah itu disimpan dalam lemari es (3°C) sampai terbentuk endapan kering. Endapan yang sudah kering berwarna coklat muda dengan struktur bubuk halus. Endapan tersebut dikarakterisasi menggunakan SEM untuk mengetahui bentuk 3 dimensinya atau morfologi permukaan partikel.

Penggunaan CaCl_2 dengan konsentrasi yang rendah dimaksudkan agar tidak terjadi ikatan yang terlalu banyak antara ion Ca^{2+} dengan gugus karboksilat dari alginat. Ikatan-ikatan yang terbentuk tersebut menyebabkan terbentuknya endapan pada larutan nanopartikel ekstrak temu kunci (*Boesenbergia pandurata*), endapan yang terbentuk berpengaruh pada hasil pengukuran diameter partikel dengan PSA. Komposisi CaCl_2 yang tinggi menyebabkan ukuran partikel pada larutan berukuran besar atau mikropartikel, sehingga persentase nano dalam partikel hanya mencapai 16,5 %, sedangkan komposisi dengan CaCl_2 konsentrasi rendah persentase nanopartikel semakin besar dari 65,5% - 95,2 %. Koloid dengan persentase nanopartikel kecil menghasilkan endapan kering berbobot 0,569 gram – 0,894 gram. Berbeda dengan koloid berpersentase nanopartikel besar, endapan keringnya hanya berbobot 0,167 gram – 0,246 gram. Data lengkap mengenai berat endapan kering dapat dilihat pada Tabel 2.

Analisis menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) dilakukan pada sampel 11 yang menunjukkan ukuran % nano paling banyak yaitu 95,2 %. Perbesaran 100x hingga 5000x hasil SEM padatan atau endapan larutan nanopartikel tersebut dapat dilihat secara jelas bentuk morfologinya pada permukaan partikel dan dapat juga dilihat ukuran partikel pada partikel padat nanopartikel ekstrak etanol temu kunci. Kesepuluh perbedaan *electron micrograph* terletak pada perbesarannya dapat dilihat pada Lampiran 22. Perbesaran 5000x merupakan perbesaran yang paling jelas menunjukan bentuk partikel nanopartikel ekstrak etanol temu kunci yaitu berbentuk lonjong. Ukuran partikel padatan dari koloid nanopartikel ekstrak etanol temu kunci dengan alginat berkisar 0,752 – 1,764 μm .

4. Hasil KLT

Hasil pembuatan nanopartikel ekstrak etanol temu kunci berupa serbuk berwarna coklat muda diidentifikasi menggunakan KLT .Analisis kromatografi lapis tipis ini bertujuan untuk identifikasi senyawa yang terdapat pada hasil pembuatan nanopartikel ekstrak etanol temu kunci dan ekstrak etanol temu kunci.

Analisis senyawa dengan kromatografi lapis tipis ini dimulai dengan melarutkan sampel ke dalam etanol p.a. Sampel yang diidentifikasi adalah sampel 7 sampai sampel 11 dan ekstrak etanol temu kunci untuk membandingkan hasil pembuatan nanopartikel ekstrak etanol temu kunci dengan ekstrak etanol temu kunci. Sampel 7 sampai sampel 11 dianggap sebagai sampel yang berhasil menghasilkan nanopartikel ekstrak etanol temu

kunci. Etanol digunakan sebagai pelarut karena senyawa hasil nanopartikel ekstrak etanol temu kunci dan ekstrak etanol temu kunci bersifat polar. Kemudian sampel yang sudah dilarutkan dengan etanol p.a dan ditotolkan pada plat silika untuk masing-masing sampel dengan jarak antar sampel sebesar 1 cm. Pengaturan jarak ini dibuat sebesar 1 cm agar tidak terjadi percampuran noda pada tiap sampel selama proses elusidasi. Selanjutnya plat dimasukkan dalam *chamber* yang berisi eluen (fasa gerak).

Pemilihan eluen dalam kromatografi lapis tipis ini sebaiknya menggunakan pelarut organik yang mempunyai polaritas serendah mungkin. Hal ini bertujuan untuk mengurangi serapan dari setiap komponen dari campuran pelarut sehingga sampel lebih terikat pada fasa diam daripada fasa geraknya. Sehingga eluen yang digunakan adalah kloroform.

Proses elusidasi ini membawa totolan tiap sampel tampak sebagai bercak kuning kecoklatan. Dengan bantuan lampu UV pada panjang gelombang 366 nm hasil KLT pemisahan yang cukup baik dengan standart R_f yang baik berkisar antara 0,2 – 0,8. Perhitungan R_f menunjukkan hasil R_f A = 0,66; R_f B = 0,61; R_f C = 0,60; R_f D = 0,60; R_f E = 0,65; dan R_f F = 0,71. Perhitungan nilai R_f dapat dilihat pada Lampiran 2. Karena harga R_f yang hampir sama dapat disimpulkan bahwa keenam sampel tersebut menghasilkan senyawa yang sama. Dengan kata lain kandungan temu kunci yang ada pada ekstrak etanol temu kunci tetap ada dalam nanopartikel ekstrak temu kunci.